

氏名	モハムド A.H. マーモウド		
授与した学位	博	士	
専攻分野の名称	学	術	
学位授与番号	博 甲 第 1250 号		
学位授与の日付	平成 6 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	Molecular characterization of cryptic flagellin genes and flagellar regulons in strains of the genus <i>Shigella</i> (赤痢菌属細菌の潜在性フラジェリン遺伝子及びフラジェラ・レギュロンの分子遺伝学的解析)		
論文審査委員	教授 榎本 雅敏	教授 中島 秀明	教授 香川 弘昭
	教授 白石 友紀	教授 土屋 友房	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

非運動性であることを特徴の 1 つとする赤痢菌属 4 亜群の系統全てに、潜在性フラジェラ・レギュロンが存在することを明らかにし、レギュロン最終段階のフラジェリン遺伝子 (*fliC*) に着目して分子遺伝学的解析を行なった。4 亜群の 5 株よりクローン化した *fliC* 遺伝子の内、*fliC_{SF}* (フレキシネリ株由来)、2 種類の *fliC_{SS}* (ゾンネ株) 及び *fliC_{SB}* (ボイディ株) 遺伝子は大腸菌 $\Delta fliC$ 株内で発現し、各遺伝子に特徴的な鞭毛線維を形成した。更に *fliC_{SS}* 遺伝子は、鞭毛相変異に関与するサルモネラ菌 FljA リプレッサーによりその発現を抑制された。ゾンネ株からは相変異関連の遺伝子は検出されなかった。*fliC_{SS}* 遺伝子 (1,524塩基対, 524アミノ酸残基) のオペレーターおよびコーディング領域の 1 部のヌクレオチド配列はサルモネラ菌 *fliC* 遺伝子のそれと類似していた。これはサルモネラ菌からの遺伝子の水平伝達と組換えを意味している。2 種類の *fliC_{SS}* 遺伝子の配列比較分析により、赤痢菌属が運動性を失ったのは進化的に最近のこと (およそ 10 万年前) であると示唆された。*fliC_{SF}* (1,650塩基対, 550アミノ酸)、*fliC_{SB}* (1,704塩基対, 568アミノ酸)、*fliC_{SD}* (ディセンテリ株, 1,650塩基対) の各遺伝子は、中央変異領域を除き、大腸菌 *fliC* 遺伝子の配列と 90% またはそれ以上の相同性を示した。しかしながら、*fliC_{SD}* 遺伝子は ISID によるさう挿入突然変異と塩基置換により作られたアムバーコドン

持っていた。クローン化した各遺伝子の1部をプローブとして、ボイディ株とディセンテリ株の他の系統の*fliC* 遺伝子をサザン法で検索した。12系統のボイディ株の内、4株のDNAは*fliC_{sf}*に特異的なプローブと反応し、5系統のディセンテリ株の内、1株は*fliC_{sf}*に特異的な、2株は*fliC_{sb}*に特異的なプローブと反応した。過去において亜群の株間で遺伝子伝達のあったことが示唆された。サルモネラ菌由来の各種プローブによるサザン分析と大腸菌フラジェラ突然変異株をもちいたP1導入実験により、4亜群の株における潜在性フラジェラ・レギュロンの保持程度が推定された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、非運動性であることを特徴の1つとする赤痢菌属4亜群の系統全てに、潜在性フラジェラ・レギュロンが存在することを明らかにし、レギュロン最終段階のフラジェリン遺伝子(*fliC*)に着目して分子遺伝学的解析を行ない、幾つかの興味ある新しい知見を得ている。赤痢菌フレキシネリ株よりクローン化した*fliC_{sf}*遺伝子(1,650塩基対、推定アミノ酸残基550)、2種類のゾネ株由来の*fliC_{ss}*遺伝子(1,572塩基対、524アミノ酸)及びボイディ株由来の*fliC_{sb}*遺伝子(1,704塩基対、568アミノ酸)は大腸菌*fliC*突然変異株内で発現し、各遺伝子に特徴的な鞭毛線維を形成した。更に*fliC_{ss}*遺伝子は、鞭毛相変異に関与するサルモネラ菌FljAリプレッサーによりその発現を抑制され、オペレーターおよびコーディング領域の1部のヌクレオチド配列はサルモネラ菌*fliC*遺伝子のそれと高い相同性を示した。しかし、ゾネ株からは相変異関連の遺伝子は検出されなかった。このことはサルモネラ菌遺伝子の赤痢菌への水平伝達と組換えを意味している。2種類の*fliC_{ss}*遺伝子の配列比較分析により、赤痢菌属が運動性を失ったのは進化的に最近のことであり、多く見積もっても凡そ10万年前の出来事であると示唆された。ディセンテリ株由来の*fliC_{sb}*(1,650塩基対)遺伝子はISID挿入突然変異とナンセンス・コドンをもっていた。*fliC_{ss}*遺伝子を除く3種類の遺伝子は大腸菌*fliC*と高い相同性を示した。クローン化*fliC*遺伝子をプローブとした赤痢菌抗原変異型のサザン分析は、ボイディ株のある系統がフレキシネリ型の*fliC*をもち、ディセンテリ株のある系統もまたフレキシネリ型の、また、ある系統はボイディ型の*fliC*遺伝子をもつことを明らかにした。過去において亜群の株間で遺伝子伝達のあったことが示唆され、また、これらプローブの利用により、抗原変異型の由来をたどることが可能になった。レギュロンを構成する他の遺伝子群についても、P1導入とサザン分析が行われ、4亜群の株は領域IとIIIaの遺伝子群を良く保持し、領域IIとIIIbの1部に種々の程度の変異を受けていることが判明した。

以上のように、本研究は赤痢菌の潜在性フラジェリン遺伝子にサルモネラ菌型と大腸菌型が存在することを明らかにし、また各亜群を構成する抗原変異型のあるものが異種のフラジェリン遺伝子をもつこと、更に潜在性フラジェラ・レギュロンの保存と再編の程度を

推定している。これらの知見は大変価値あるものであり、遺伝子や種の分化を考える上で大きな波及効果をもっている。本学位論文は、内容及び構成において充分博士の学位に値する。